

**Elektronenmikroskopische
Untersuchungen über die Struktur der
sogenannten Grundsubstanz in der Groß-
und Kleinhirnrinde des Säugetieres**

Hermann Hager

Aus dem Hirnpathologischen Institut
der Deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie
Max-Planck-Institut, München (Direktor: Prof. Dr. W. Scholz)

Elektronenmikroskopische Untersuchungen
über die Struktur der sogenannten Grundsubstanz
in der Groß- und Kleinhirnrinde des Säugetieres

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Hermann Hager
Dr. rer. nat.

aus München



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:

Prof. Dr. W. Scholz

Mitberichterstatter:

Prof. Dr. K. Kolle

Prof. Dr. R. Bachmann

Dekan:

Prof. Dr. H. Schwiegk

Tag der mündlichen Prüfung: 10. Sept. 1959

Aus dem Hirnpathologischen Institut der Deutschen Forschungsanstalt für
Psychiatrie, Max-Planck-Institut, München (Direktor: Prof. Dr. W. SCHOLZ)

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Struktur der sogenannten Grundsubstanz in der Groß- und Kleinhirnrinde des Säugetieres* **

Von
H. HAGER

Mit 13 Textabbildungen

(Eingegangen am 10. Januar 1959)

„Die grauen Gebiete bestehen nicht nur aus markhaltigen Nervenfasern, aus Nervenzellen, aus nicht nervösen Zellen, aus Gliafasern und aus Blut- und Lymphgefäßen, sondern außerdem noch aus einer eigenartigen Zwischensubstanz, welche sich zwischen den genannten Bauelementen ausbreitet und sich von denselben unterscheidet.“ So hat NISSEL (1903) den Begriff der Grund- oder Zwischensubstanz im Zentralnervensystem definiert. Hypothetische Erörterungen über eine solche Grundsubstanz sind jedoch bedeutend älter. Schon EHRENBURG (1836) sprach von einer feinkörnigen Bindesubstanz im Zentralnervensystem. Ähnliche Vorstellungen entwickelten in der Folge BOLL (1874), GERLACH (1872), GIERKE (1885/86). Sogar GOLGI dachte sich die interneuronalen Verbindungen durch ein interstitielles Netz bewerkstelligt, an dessen Bildung die Dendriten jedoch nicht teilnehmen sollten. Im übrigen wurden die Lücken der sicheren Kenntnis durch Hypothesen geschlossen. Vielfach wurde die Grundsubstanz des Zentralnervensystems nicht nur als formlose Intercellularsubstanz gedacht, sondern ihr wurden auch ein besonderes Gefüge und eigentümliche physiologische Leistungen zugesprochen. So hat NISSEL, ausgehend von den Befunden APATHYS an Wirbellosen unter seinem „nervösen Grau“ einen nichtzelligen, spezifisch nervösen Anteil des Zentralnervensystems verstanden, welcher Einrichtungen zur lokalisierten Leitung besitzen und imstande sein sollte, nervöse Leistungen verschiedener Art zu verwirklichen. Er war es auch, der die Lehre von der Grundsubstanz wieder zu neuem Leben erweckt hat, nicht zuletzt, um sich ihrer als Hauptargument in seinem Kampf

* Durchgeführt mit dankenswerter Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

** Über Teilergebnisse wurde auf der 7. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Elektronenmikroskopie, Darmstadt, 23. 9. 57, und auf der 7. Tagung der Vereinigung Deutscher Neuropathologen, Wien, 21. 4. 58, berichtet.

gegen die Neuronentheorie zu bedienen. Hervorzuheben sind auch die Untersuchungen HELDS (1927) über das sogenannte „allgemeine Grundnetz“. Er hatte im Gewebe der grauen Rindengebiete ursprünglich in der Molekularschicht der Kleinhirnrinde ein blasses, mit Silberimprägnation nicht darstellbares Netz beschrieben, das er „allgemeines Grundnetz der grauen Hirnsubstanz“ nannte. Dieses Netz sollte die Zwischenräume zwischen den Nervenzellen und den übrigen Gewebelementen ausfüllen. Die Dendriten und Fortsätze der Gliazellen sollten in die Substanz des Grundnetzes allseitig übergehen (Neurencytium). Die Struktur wurde als gemeinsame protoplasmatische Bildung von Nerven- und Gliazellen aufgefaßt und ihrer Funktion nach als nervös, d.h. der Reizumleitung dienend, angesehen. Die Lehre vom Heldschen Neurencytium erfuhr durch K. F. BAUER (1953) einen weiteren Ausbau.

In jüngster Zeit wurden zunehmend histochemische Methoden zu Aussagen über die stoffliche Natur einer Grundsubstanz im Zentralnervensystem herangezogen. Es handelt sich um die Anwendung von Nachweisverfahren am Gewebeschnitt, die vornehmlich zur Darstellung von Polysacchariden geeignet sind (BAIRATI 1953; HESS 1953; DIXON 1953, 1954; LEBLOND 1950).

Nach der raschen Entwicklung der Fixations- und Dünnschnitt-Technik wurden in den letzten Jahren auch wesentliche Fragen der feinstrukturellen Organisation des Nervensystems elektronenoptisch einer Klärung zugeführt. Einige der wesentlichsten Ergebnisse haben wir im Zusammenhang mit eigenen Befunden zusammenfassend dargestellt (HAGER, HIRSCHBERGER u. SCHOLZ 1958). Da die Frage nach der Existenz einer Grundsubstanz, eines „nervösen Graues“, bzw. einer „reticulären syncytialen Organisation“ im Zentralnervensystem lichtoptisch offenbar nicht beantwortet werden konnte, lag es nahe, das Elektronenmikroskop heranzuziehen. Die hier mitgeteilten und erörterten Befunde wurden an Groß- und Kleinhirnrinde des Goldhamsters erhoben. In jüngster Zeit haben HORSTMANN (1957) die Struktur der molekularen Schichten im Gehirn von Haifischen, Knochenfischen, Schildkröten und Katzen, NIESSING u. VOGELL (1957) die Grundsubstanz der Hirnrinde des Menschen und Affen elektronenoptisch untersucht.

Material und Methoden

Es wurde die dorsomediale Großhirnrinde und die Rinde des Kleinhirnwurms des Goldhamsters untersucht. Am Kleinhirn erfolgte die Fixierung schnell entnommener Gewebsstücke in Osmiumtetroxydlösung (1%), die nach PALADE (1952) mit Veronalacetatpuffer auf ein p_H von 7,2–7,4 eingestellt war. Am Großhirn bemühten wir uns bei einem Teil der Tiere, eine kurzzeitige Fixierung durch Durchspülung auf dem Gefäßweg zu erreichen. Es wurde nach schneller Öffnung des Thorax und Einführung einer geeigneten Kanüle in die aufsteigende Aorta in Äthernarkose eine Perfusionsfixierung des Gehirns mit 1%iger Osmiumtetroxydlösung durchgeführt.

Die einzubettenden Gewebsstücke wurden in gekühlter 1%iger Osmiumtetroxydlösung 2–4 Std nachfixiert. Nach Auswaschen in destilliertem Wasser, Alkoholreihe erfolgte eine Durchtränkung der Gewebe mit einer Mischung von entstabilisiertem Butyl- und Metacrylat (9:1) unter Zusatz von 1% Benzoylperoxyd. Die Polymerisation des Gemisches wurde in Gelatine kapseln bei 45° C im Wärmeschrank durchgeführt. Kleine Pyramiden an geeigneten Objektstellen wurden unter mikroskopischer Kontrolle zugespitzt. Die Schnitte wurden an zwei Ultramikrotomen (Porter-Blum und Leitz) unter Verwendung von Glasmessern hergestellt und auf Elektrolytkupfernetzen, die mit Formvar-Folien versehen waren, aufgenommen. Die elektronenoptische Untersuchung erfolgte an zwei Geräten des II. Physikalischen Instituts der Universität München (Zeiss EM 8, Strahlspannung 50 kV und Siemens UM 100, Strahlspannung 60 kV)¹.

Befunde

In der Molekularschicht der Kleinhirnrinde des Goldhamsters tritt an ultradünnen Schnitten schon bei niedriger elektronenoptischer Vergrößerung eine Fülle von organisierten Strukturen hervor, die großenteils durch das Lichtmikroskop nicht mehr aufgelöst werden (Abb. 1 a, b). Es liegt, wie noch näher zu begründen ist, ein dichtes mosaikartiges Gefüge von durch dunkle Konturen abgegrenzten Anschnittprofilen von Zellfortsätzen vor, dazwischen verlaufen, gelegentlich auch longitudinal getroffen (Abb. 2), über eine größere Strecke hin verfolgbare Felder. Die Durchmesser der einzelnen Profile bewegen sich von Dimensionen innerhalb der lichtmikroskopischen Auflösung an bis herab zu wenigen hundert Ångström-Einheiten. Bei höherer Auflösung läßt sich erkennen, daß die in Größe und Form recht variierenden Profile durchwegs durch eine scharf konturierte osmophile Membran begrenzt sind. Diese Grenzmembranen umschließen auch die kleinsten Schnittprofile vollständig (Abb. 3, 4, 7, 8). Es ist zu beachten, daß es sich demnach nicht um Doppelmembranen handelt, vielmehr liegen zwischen den benachbarten, einfach konturierten Membranen durchweg *Lücken bzw. Fugen*, die weitgehend konstante Abmessungen zeigen (110–150 Å). Wir fassen, wie noch eingehend zu erörtern sein wird, die Räume zwischen den cytoplasmatischen Grenzmembranen als ein Fugensystem auf, das sich zwischen den mosaikartig angeordneten, feinen und feinsten Zellverästelungen befindet und einen kommunizierenden extracellulären Raum darstellt. Die Breite der einfach konturierten cytoplasmatischen Grenzmembranen beträgt an unseren Objekten 20–30 Å. In den 110–120 Å breiten Fugen läßt sich, wie bei höherer Auflösung erkennbar (Abb. 7, 8), feinverteiltes, schwach kontrastierbares Material nachweisen. Ganz allgemein finden sich in den durch Membranen abgegrenzten cytoplasmatischen Anschnittprofilen flockenförmig verteilte, osmophile

¹ Herrn Prof. ROLLWAGEN, der mir das Arbeiten an den Elektronenmikroskopen des II. Physikalischen Instituts der Universität München ermöglichte, sei auch an dieser Stelle dafür herzlich gedankt.

Substanzen, die Bestandteile des Grundcytoplasmas darstellen dürften. Ferner sind schon bei niedriger Vergrößerung nicht nur in den größeren Bereichen, sondern auch in den kleinsten abgrenzbaren Feldern durch Osmium dunkel kontrastierte Körper zu erkennen (Abb. 1a, b; 2), die sich bei höherer Auflösung auf Grund ihrer Struktureigentümlichkeiten als Mitochondrien erkennen lassen (Abb. 3, 4, 7, 9). Das Vorkommen von Mitochondrien ist mit ein Beweis dafür, daß es sich bei den mosaikartigen

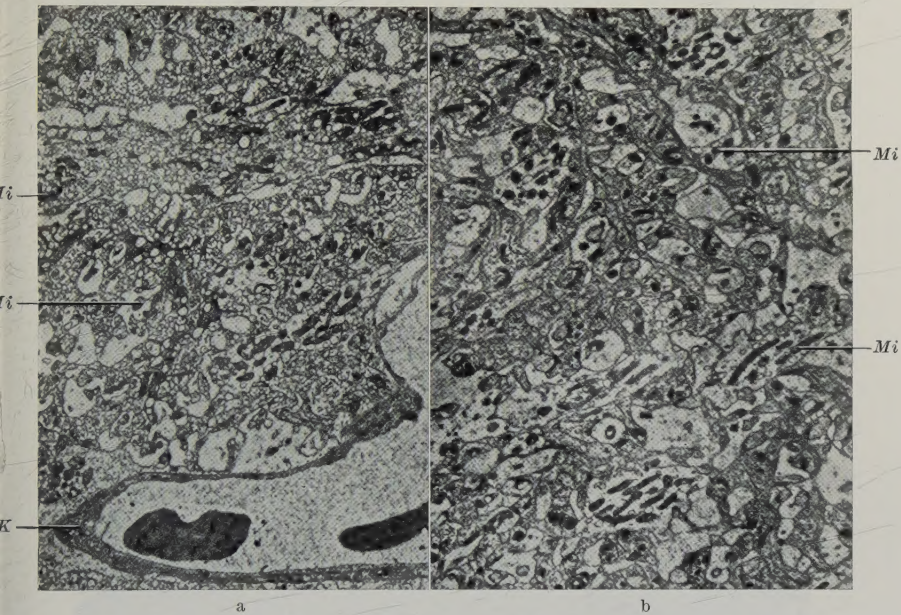


Abb. 1a u. b. Kleinhirnrinde (Wurm) des Goldhamsters, Molekularschicht. Feines Mosaik von durch dunkle Konturen abgegrenzten Zellfortsätzen, die Mitochondrien (*Mi*) enthalten (*K* Capillarwand). (Zeiss EM 8) 4800:1

Feldern um Cytoplasmabereiche handelt, die als Zellfortsätze anzusprechen sind. Die in ihrem Binnenraum vorkommenden Mitochondrien weisen im wesentlichen die gleichen Baumerkmale auf wie in den Perikarya der Zellen des nervösen Gewebes. Als weitere Differenzierungen finden sich intraplasmatisch innerhalb größerer Zellfortsätze der Kleinhirnmolecularis durch Membranen abgegrenzte, ovale bis tubuläre oder auch als Vacuolen erscheinende Gebilde, welche vielfach kontrastärmere Räume einschließen, die keine geformten Bestandteile enthalten (Abb. 4, 11). Sie sind, wie noch zu erörtern ist, dem sogenannten Endoplasmareticulum zuzuordnen. Ganz vereinzelt lassen sich auch in größeren Schnittprofilen locker verstreut im Grundcytoplasma und ohne Beziehung zu Membranstrukturen osmophile Granula nachweisen. Sie sind mit den körnerartigen Gebilden identisch, die sich in dichter Häufung und

bestimmter Anordnung im Grundcytoplasma von Zellen nachweisen lassen, welche eine ausgesprochene Basophilie zeigen; sie sind unter

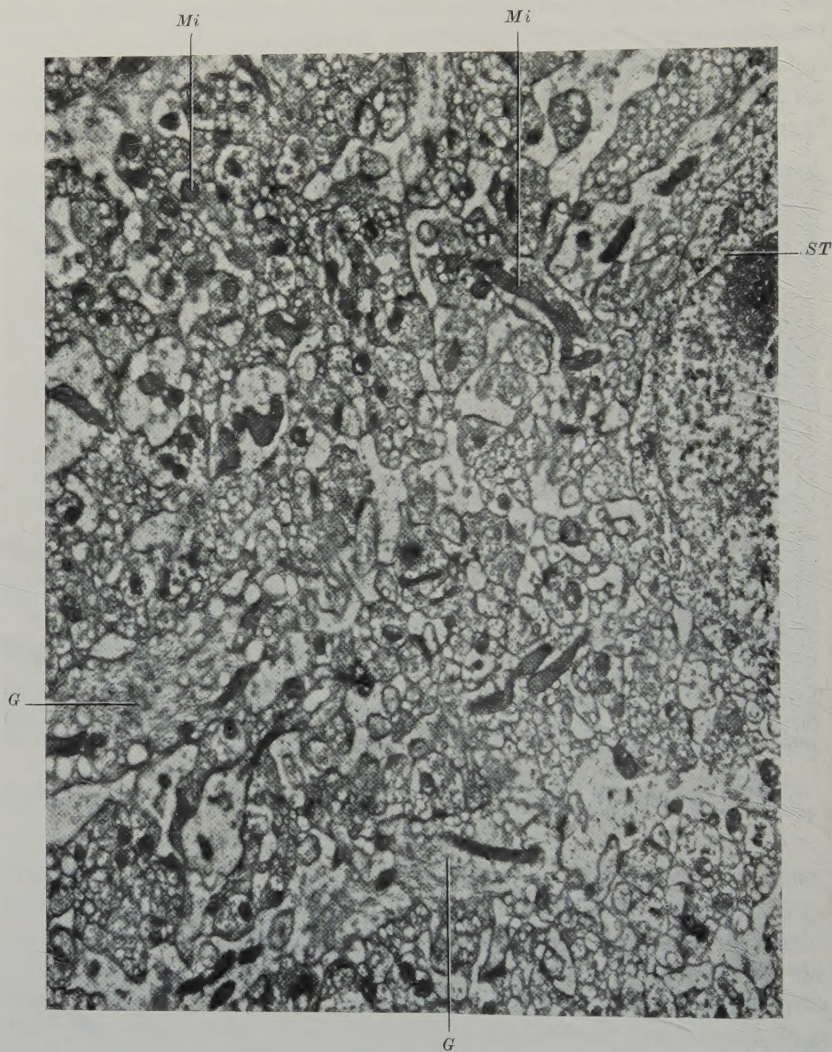


Abb.2. Kleinhirnrinde (Wurm) des Goldhamsters. Molekularschicht. Dichtes Gefüge abgrenzbarer Anschnittprofile von Zellfortsätzen. *G* größere, über eine längere Strecke verfolgbare Fortsätze, *Mi* Mitochondrien, *ST* Perikaryon und Kern einer Sternzelle. (Zeiss EM 8) 9600:1

anderem auch in den Nervenzellen (Abb.9) beschrieben worden (PALADE 1955). Ein in der Molecularis der Kleinhirn- und Großhirnrinde besonders auffälliger Befund, der aber auch in den tieferen Schichten nicht fehlt, sind Häufungen kleiner bläschenförmiger, jeweils durch eine Membran

abgegrenzter und von homogenen Substanzen erfüllter Strukturen (Abb. 3, 6, 8). Der Durchmesser dieser Bläschen beträgt im Mittel



Abb. 3. Kleinhirnrinde (Wurm) des Goldhamsters. Molekularschicht. *M* benachbarte, parallel verlaufende Zellmembranen, die als dunkel konturierte Linien erscheinen, dazwischen Interzellularfugen, *Mi* Mitochondrien, *S* Synapsenbläschen. (Siemens UM 100) 21600:1

250–300 Å; sie sind meist in traubenartiger Form in Cytoplasma angeordnet und finden sich nicht selten dicht gelagert an der Grenzmembran. Wo diese Bläschen ihr unmittelbar anliegen, lassen sich an ihr,

in der Interzellularfuge und am gegenüberliegenden Membranabschnitt nicht selten dunkel kontrastierbare, umgrenzte Substanzanlagerungen

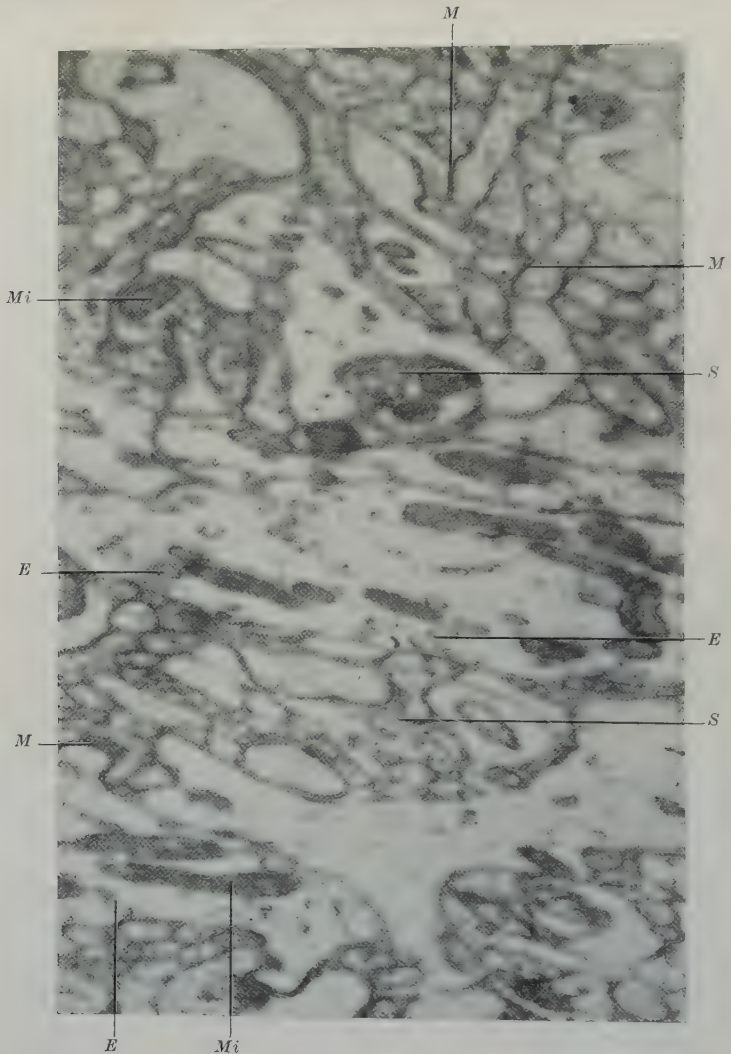


Abb. 4. Kleinhirnrinde (Wurm) des Goldhamsters. *M* Zellmembranen, dazwischen Interzellularfugen, *Mi* Mitochondrien, *E* ovale und tubuläre Anschnittprofile des Endoplasmareticulums; diese sind im Gegensatz zu den Mitochondrien durch einfache Membranen abgegrenzt, *S* Synapsenbläschen.
(Siemens UM 100) 21600:1

nachweisen (Abb. 8, 12). Die Bläschenanhäufungen finden sich meist in Gesellschaft von Mitochondrien, sie kommen auch in kleinen Feldbereichen, nie aber in Verein mit einem ausgeprägten Endoplasmareticulum und mit Palade-Granula vor.

In der Molekularschicht der Großhirnrinde trifft man auf grundsätzlich gleiche Strukturverhältnisse, wenn auch die Muster der Anordnung sich unterscheiden. Hier und in den tieferen Rindenschichten tritt an Longitudinalanschnitten, die über längere Strecken zu verfolgen sind, eine Neigung der als feine kurze Fäden erscheinenden Bestandteile des Grundcytoplasmas hervor, sich parallel zur Längsachse anzuordnen

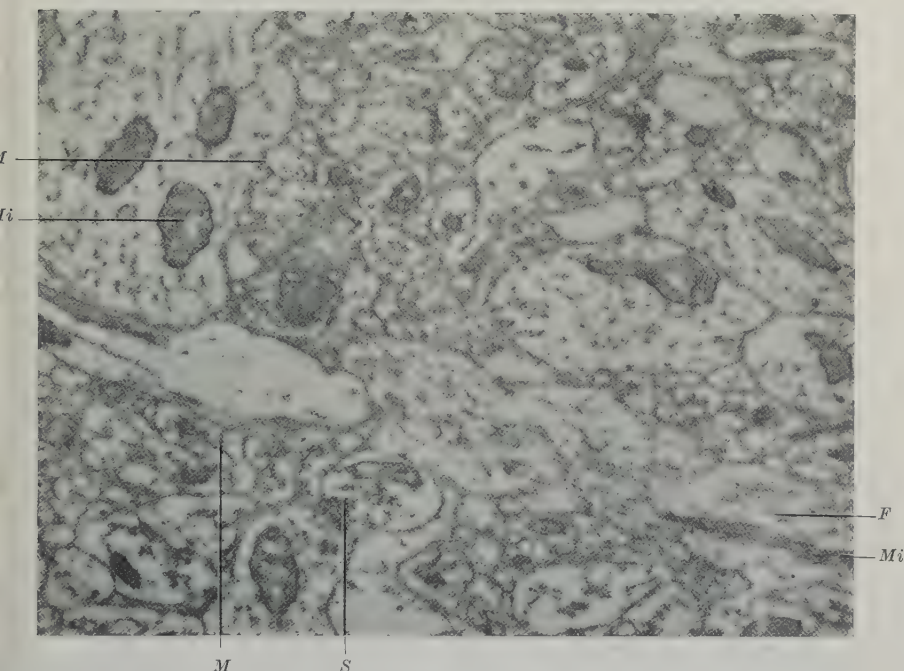


Abb.5. Großhirnrinde des Goldhamsters. Lamina molecularis. *M* Zellmembranen, dazwischen Inter-cellularfugen, *Mi* Mitochondrien, *S* Synapsenbläschen, *F* parallel zur Faserlängsachse orientierte, aus dem Grundcytoplasma ausgefällte Substanzen („Neurofilamente“). (Siemens UM 100) 21600:1

(Abb.5, 9). Hervorzuheben ist die Existenz langer, monströser, fadenartiger Mitochondrien in Feldbereichen, die über einen längeren Verlauf verfolgbar sind. In zellreicheren Schichten der Großhirnrinde (3. Schicht) läßt sich besonders deutlich (Abb.9) zeigen, daß der Raum zwischen den Perikarya der Nerven- und Gliazellen, den lichtmikroskopisch nachweisbaren markhaltigen und marklosen Fasern und den Capillarwänden von dichtgepackten, feinen und feinsten cytoplasmatischen Zellfortsätzen nahezu völlig ausgefüllt ist. Es läßt sich dabei veranschaulichen (Abb. 10), daß auch in den tieferen corticalen Schichten ein extracellulärer Raum existiert, der mit dem kontinuierlichen Inter-cellularfugensystem der zellarmen Molekularschicht identisch ist.

Was schließlich die Beziehung der fein verästelten Zellfortsätze zueinander betrifft, so sind Befunde, die auf eindeutig verbreitete Anastomosierungen im Sinne eines syncytialen Organisationsprinzips schließen lassen, auch an den dicht gelagerten kleinsten Feldern, die wir als Anschnittprofile von Terminalverästelungen von Fortsatzsystemen

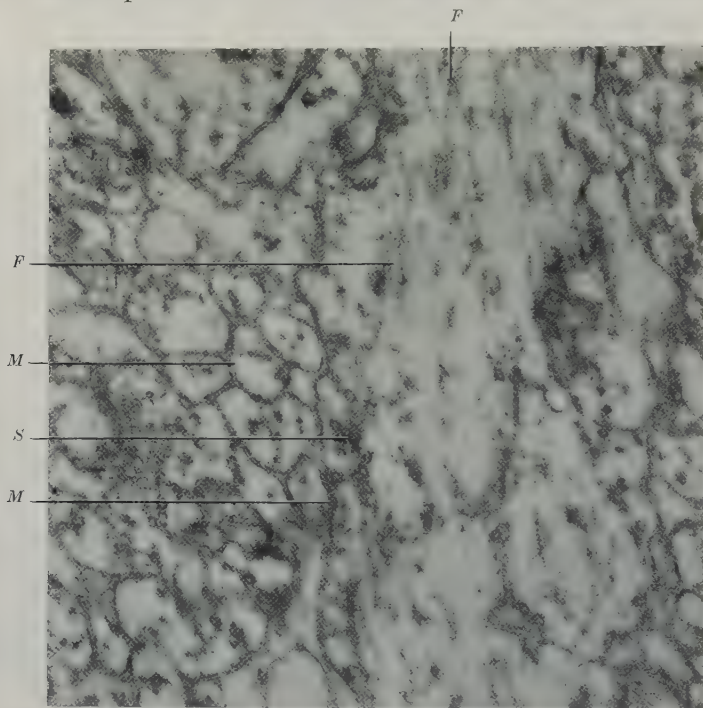


Abb. 6. Kleinhirnrinde (Wurm) des Goldhamsters. *M* Zellmembranen, dazwischen Intercellularfugen, *S* Häufung von Synapsenbläschen in Nachbarschaft der Membran, *F* „Neurofilamente“.
(Siemens UM 100) 43200:1

auffassen, nicht zu erheben. Überall findet sich das Prinzip der Abgrenzung der Plasmabereiche durch Membranstrukturen. Die das nervöse Gewebe des Rindengraues bildenden Zellen zeigen also auch im Bereich ihrer feinsten Fortsatzverästelungen scharfe Zellgrenzen in Form von Membranen.

Besprechung der Befunde

Der Teil der grauen Substanz des Zentralnervensystems, der für eine Grundsubstanz, ein nervöses Grau im Sinne NISSLS oder ein allgemeines Grundnetz in Anspruch genommen worden und Gegenstand mannigfacher Theorienbildungen und Vermutungen gewesen ist, stellt sich im Elektronenmikroskop als nahezu lückenlos ausgefüllt mit feinen und

feinsten Struktureinheiten dar, die mit der herkömmlichen histologischen Methodik und der Auflösungsfähigkeit des Lichtmikroskops zum großen

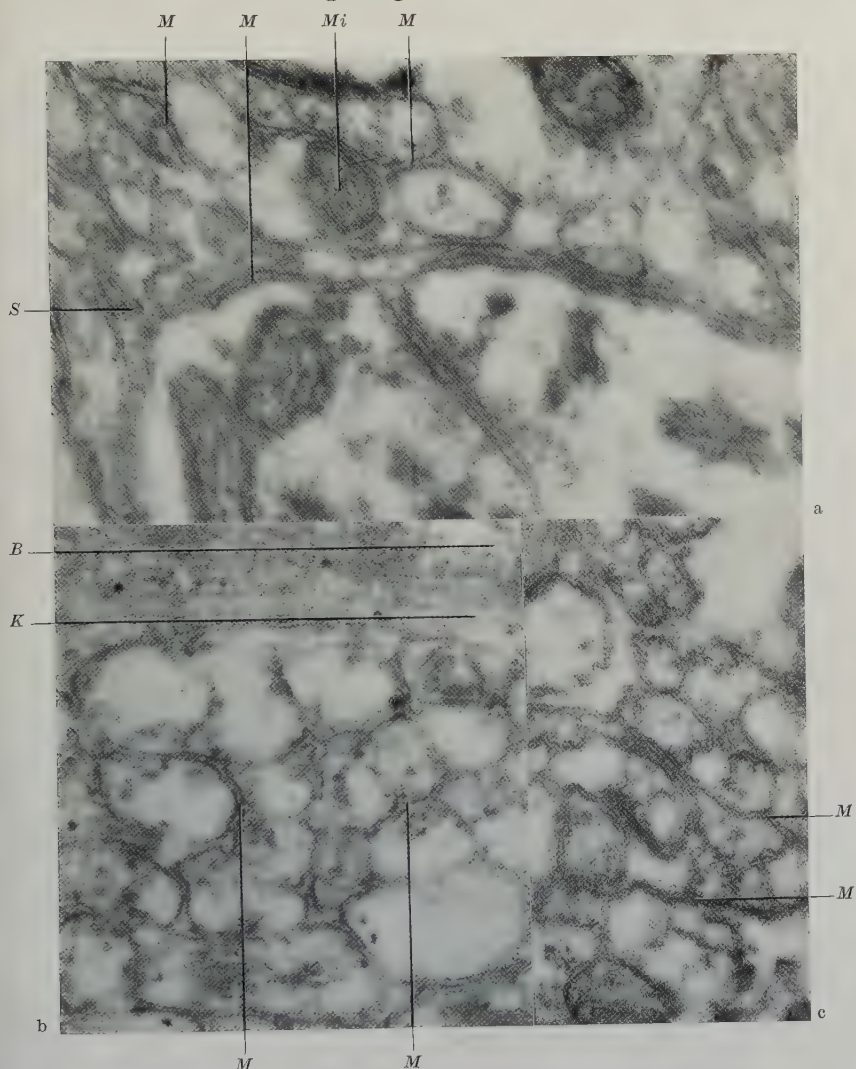


Abb. 7. a u. b Intercellularfugensystem in der Lamina molecularis der Großhirnrinde des Goldhamsters. *M* benachbarte Zellmembranen (Breite 25–30 Å), dazwischen Intercellularfugen (Breite im Mittel 150 Å), die schwach kontrastiertes feinverteilt Material enthalten, *Mi* Mitochondrien, *S* Synapsenbläschen, *B* Basalmembran einer Capillare, *K* Kern einer Capillarendothelzelle. (Siemens UM 100) 90 000:1. — c Intercellularfugensystem in der Kleinhirnrinde (Wurm) des Goldhamsters. *M* benachbarte Zellmembranen, dazwischen Intercellularfugen. (Siemens UM 100) 45 000:1

Teil nicht erkennbar gemacht werden können. Es läßt sich zeigen, daß sie sämtlich durch Membranen begrenzt sind und daß sich in ihnen

Bestandteile des Grundcytoplasmas, häufig Mitochondrien und gelegentlich auch andere Organellen nachweisen lassen. Es handelt sich demnach um Zellfortsätze, deren Differenzierbarkeit noch eingehender zu erörtern

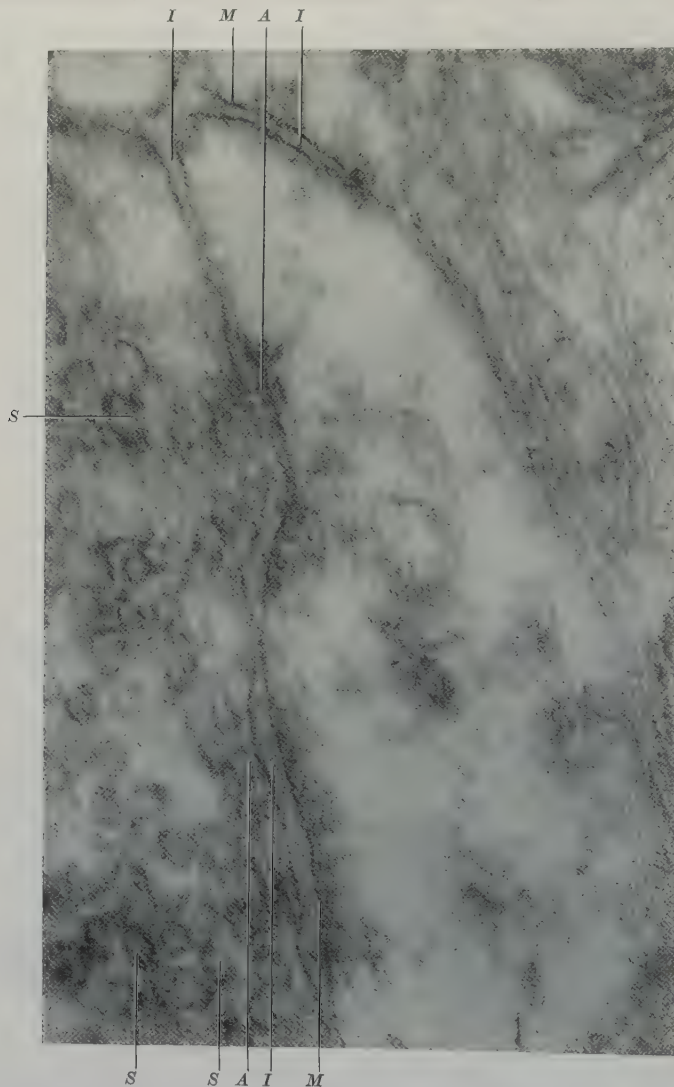


Abb. 8. Großhirnrinde des Goldhamsters. Lamina molecularis. *M* Zellmembranen. Sie erscheinen als einfache, dunkel kontrastierte Linien von 25–30 Å Breite. *I* Intercellularfugen, die schwach kontrastiertes, fein verteiltes Material enthalten. Die Breite schwankt in Abhängigkeit vom Verlauf der Fugen zur Schnittebene etwas. Der Mittelwert beträgt 150 Å, *S* Häufung von Synapsenbläschen in Membrannähe. Der Durchmesser der Bläschen beträgt im Mittel 300 Å. Sie sind durch dunkel kontrastierte Membranen begrenzt und enthalten homogene Substanzen, *A* umgrenztes Auftreten dunkel kontrastierter Substanzen an benachbarten Membranen und in den Intercellularfugen. (Siemens UM 100).

180000:1

ist. Besonders hervorzuheben ist, daß die Membranen von benachbarten Zellfortsätzen durchweg weitgehend gleiche Abstände einhalten und

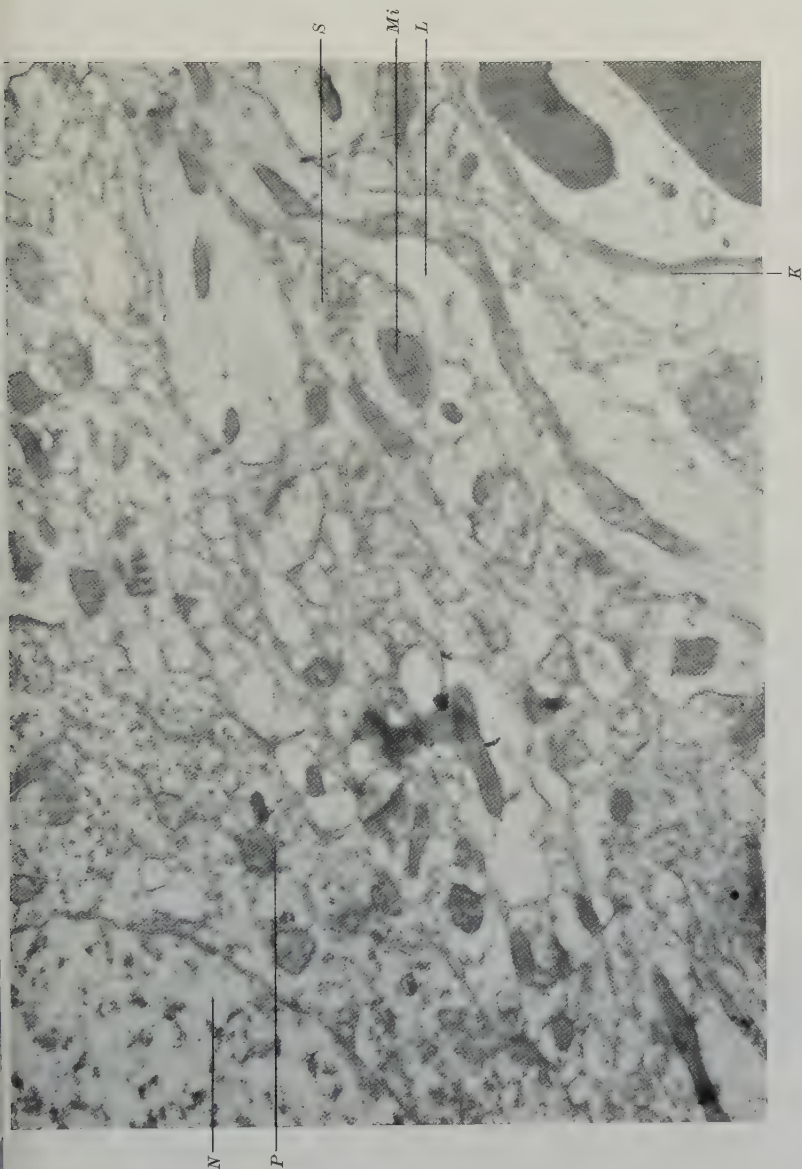


Abb. 9. Großhirnrinde des Goldhamsters. Mediodorsaler Abschnitt, 3. Schicht. Nahezu lückenlose Ausfüllung des Raumes zwischen Capillare und Perikaryon einer Nervenzelle durch Zellfortsätze. *K* Endothelschlauch und Basalmembran einer Capillare, *N* Kern, *P* Perikaryon einer Nervenzelle. Im Cytoplasma reichlich Paladgranula und Schnittprofile des Endoplasmareticulums, *L* Longitudinalanschnitt eines Zellfortsatzes, Neurofilamente und monstrose Mitochondrien enthaltend, *Mi* Mitochondrie, *S* Synapsenbläschen. (Siemens UM 100) 21600:1

damit Fugen von konstanter Breite begrenzen (150—200 Å), so daß der Eindruck von Doppelmembranen entsteht. Jedoch umschließt je eine der parallel laufenden, sich dunkel und scharf abzeichnenden Linien

einen protoplasmatischen Zellfortsatz und stellt seine begrenzende Membran dar. Entgegen den Befunden NIESSINGS u. VOGELLS (1957), die von einem lückenlosen Nebeneinander feinsten Fortsätze mit Trennung durch Grenzflächen sprechen, lassen sich auf unseren Aufnahmen



Abb. 10. Halbschematische Zeichnung zu Abb. 9: Ausfüllung des Raumes zwischen Capillare und Perikaryon einer Nervenzelle in der Großhirnrinde. *N*: Kern einer Nervenzelle, *P*: Endothelschlauch, *B*: Basalmembran.

Lücken bzw. Fugen zwischen benachbarten Strukturen nachweisen, die durch ihr allörtliches Vorkommen und die Konstanz ihrer Abmessungen beeindruckten. Auch HORSTMANN (1957) hat in den molekularen Schichten des Gehirns von Haifischen, Knochenfischen, Schildkröten und Katzen

zwischen den Zellmembranen Spalten von 120—200 Å Breite beobachtet. Diese Lücken sind auch zwischen den feinsten submikroskopischen Zellfortsätzen, deren geringste Durchmesser vielfach nur 400 Å betragen,

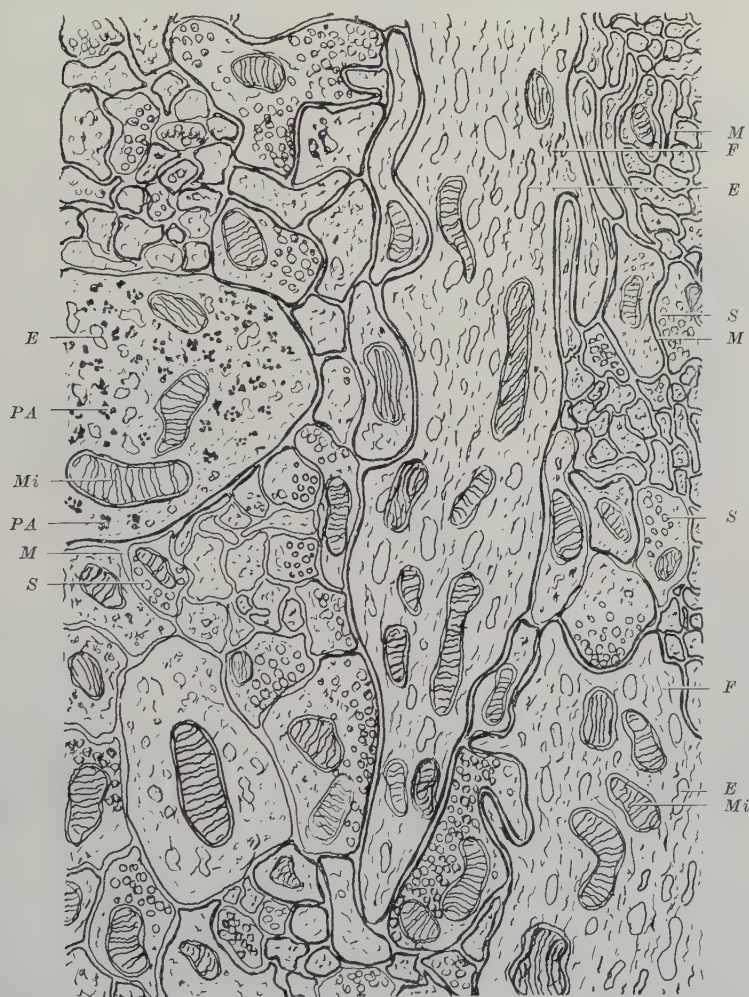


Abb. 11. Halbschematische Darstellung der Grundstrukturverhältnisse in der Lamina molecularis der Kleinhirnrinde. Elemente des Endoplasmareticulums (*E*), „Neurofilamente“ (*F*) und locker verstreute Paladegranula (*PA*) finden sich in größeren Zellfortsätzen. *M* Grenzmembranen und System der Interzellularfugen, *S* Häufungen von Synapsenbläschen, *Mi* Mitochondrien

nachzuweisen. Ein echter extracellulärer Raum findet sich in der grauen Substanz nach unseren Beobachtungen lediglich in Form dieses Interzellularfugensystems.

Die höher auflösenden elektronenoptischen Aufnahmen zeigen, daß jeder, auch der feinste protoplasmatische Zellfortsatz scharf konturiert ist. Die Grenzlinie, die einer Membran entspricht, stellt sich mit den von uns angewandten Fixierungs- und Einbettungsmethoden und der erzielten elektronenoptischen Auflösung in der Regel als eine durch Osmiumeinlagerung sich gleichmäßig in dunklem Kontrast abzeichnende Linie von annähernd 20–30 Å Breite dar. Bemerkenswert ist die Einheitlichkeit von Form und Dicke aller dieser Membranen.



Abb. 12. Schema des Gefüges von Zellfortsätzen, der Membranverhältnisse und des Interzellularfugensystems in der Großhirnrinde. Innerhalb der Anschnittprofile der Zellfortsätze lassen sich Mitochondrien (*Mi*), Synapsenbläschen (*S*) und Komponenten des Grundcytoplasmas nachweisen. Sie sind durch scharf konturierte Membranen (*M*) abgegrenzt. Die Interzellularfugen (*I*) weisen eine Breite von 150 Å auf und enthalten homogen verteilte, nur schwach kontrastierbare Substanzen. In Bereichen, die Häufungen von Synapsenbläschen in Membrannähe zeigen, lassen sich häufig umschriebene Anlagerungen (*A*) dunkel kontrastierbarer Substanzen an den Membranen benachbarter Zellfortsätze und in der Interzellularfuge nachweisen

Die Beobachtungen und Vorstellungen über die Organisation tierischer Zellmembranen waren bisher nicht frei von Widersprüchen. Dicken von 30 Å bis zu mehreren Hundert Ångström-Einheiten wurden angegeben. DAVSON u. DANIELLI (1943) haben auf Grund von Ergebnissen, die mit indirekten Methoden erhalten worden sind, für tierische Zellen eine aus molekularen Schichten zusammengesetzte Membran von etwa 50–100 Å Dicke angenommen. ROBERTSON (1957/58) hat in letzter Zeit darauf hingewiesen, daß sich elektronenoptisch an den verschiedensten Zelltypen einheitliche Membranverhältnisse sichtbar machen lassen. Bei Kaliumpermanganatfixierung nach LUFT (1956) haben die Grenzmembranen annähernd 75 Å Durchmesser, sie setzen sich aus zwei Linien

von 25 Å und einer dazwischen liegenden Zone von 25 Å zusammen (Abb. 13). Es wird angenommen, daß dieser Anordnung eine bimolekulare Lipoidschicht zugrunde liegt, deren polare Oberflächen von monomolekularen Lamellen anderen Materials bedeckt sind. Wir konnten mit der verwendeten Technik und der zur Verfügung stehenden elektronenoptischen Auflösung keine durchgehende Doppelkonturierung der Grenzmembranen nachweisen. Die Konstanz der Fugendimensionen (150 bis 200 Å), die wir in allen untersuchten Rindengebieten antrafen, ist ein besonderes eindrucksvolles Phänomen. Ganz allgemein scheinen die Abmessungen der intracellulären Fugen bei einer Reihe von parenchymatösen und epithelialen Geweben ungefähr in der gleichen Größenordnung zu liegen (ZETTERQUIST 1956; SJÖSTRAND 1956; VOGEL 1958; ROBERTSON 1958).

Sowohl an der Groß- als auch an der Kleinhirnrinde erkannten wir in den Interzellularfugen fein verteilte, schwach osmophile Substanzen. Wir glauben, daß die stoffliche Organisation und physiologische Bedeutung der Interzellularfuge im Zentralnervensystem von besonderem Interesse ist. Unter dem Eindruck der konstanten Abstände der Grenzmembranen benachbarter Zellen in verschiedenen Geweben nahm SJÖSTRAND an, daß die Fugen in den bislang untersuchten parenchymatösen Geweben von Material lipoiden Charakters ausgefüllt sind. Die Konstanz der Abstände sollte durch die molekulare Anordnung der Lipide gegeben sein. Aufschlußreich für das Problem der Fugensubstanzen sind neuere experimentelle Beobachtungen ROBERTSONS (1958). Es gelang ihm, in hypertonischen Lösungen die 100–150 Å breiten Interzellularfugen (Abb. 13) an marklosen Nervenfasern zum Kollabieren zu bringen, so daß aus den zwei benachbarten Zellmembranen von je 75 Å eine zusammengesetzte Membran von 150 Å Durchmesser entstand. ROBERTSON denkt deshalb an eine Ausfüllung der Fugen durch ein hoch hydriertes Gel, möglicherweise von Polysaccharidcharakter.

Da auch PORTER (1956) als Interzellularsubstanz ein Mucopolysaccharid vermutet, ist die Beziehung zu neueren histochemischen Befunden über die stoffliche Natur einer zwischenzelligen Substanz im Zentralnervensystem zu erörtern. HESS fand 1953, daß in den grauen Gebieten des Zentralnervensystems von Ratten und Mäusen die Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PAS-Reaktion) einen positiven Ausfall zeigt. Er kam zu der Vorstellung, daß die Zellkörper, die Axonfortsätze und die



Abb. 13. Schema der feinstrukturellen Organisation der Zellmembranen und der Interzellularfugen auf Grund der Auffassungen von ROBERTSON (1958). *D* Schichten aus dunkel kontrastierbarem Material (25 Å), *L* bimolekulare Lipoidschicht (25 Å), *I* Interzellularfuge, die ein hochhydriertes Gel, wahrscheinlich von Mucopolysaccharidcharakter, enthält (150 Å)

Dendriten der Nervenzellen, ebenso die Neuroglia und ihre Fortsätze PAS-negativ sind, und bezog die positive Reaktion auf eine echte Grund-, Füll- oder Kittsubstanz. Gleichsinnige Befunde hatten LEBLOND (1950) und BAIKATI (1953) erhoben. Mit Hilfe von enzymatischer Verdauung, Behandlung mit Lösungsmitteln und chemischen Blockierungen zeigte HESS, daß dieses PAS-positive Material weder Glykogen- noch Lipoidnatur besitzt, sondern daß es sich um ein neutrales Mucopolysaccharid handeln müsse. Gegen Enzyme verhalten sich die Substanzen ähnlich wie die der Basalmembran anderer Gewebe, z. B. der Nierentubuli (KRAMER u. WINDRUM 1954). Durch Hyaluronidase sind sie nach HESS (1953) nicht merklich beeinflussbar. Die Metachromasie, die schon HOLMGREN (1939) in fetalen Gehirnen, KRAMER u. WINDRUM nach Sulfierung und Azurfärbung in der intercellulären Matrix der grauen Substanz beschrieben haben, zeigt nach HESS (1958) dieselbe Verteilung wie die positive PAS-Reaktion. GLEGG u. PEARCE gelangten jedoch auf Grund papierchromatographischer Analysen zur Überzeugung, daß das metachromatische Verhalten einer anderen PAS-negativen Fraktion von Kohlenhydratsubstanzen zuzuschreiben sei. Wie HESS (1955) ferner feststellte, fehlen die PAS-positiven Mucopolysaccharide während der fetalen und postnatalen Entwicklungsperiode des Zentralnervensystems und werden erst mit der Ausbildung der Schrankenfunktion in merklichem Maße nachweisbar. Gleichsinnige Befunde erhob 1955 BRANTE mit biochemischen Methoden bezüglich des Hexosamingehaltes des Mäusegehirns. Es wird deshalb angenommen, daß Mucopolysaccharide am Aufbau der Bluthirnschranke maßgeblich beteiligt sind und beim Stoffaustausch im Zentralnervensystem eine gewisse Rolle spielen (HESS 1955). Diese Substanzgruppe soll auf Grund ihrer chemischen Eigenschaften eine Diffusion von Wasser und von in echter molekularer Lösung vorliegenden Stoffen zulassen, ein freier Transport größerer Teilchen soll aber durch sie verhindert werden (DIEZEL 1955).

Zur Frage der histochemischen Identifizierung von Mucopolysacchariden als Intercellularsubstanz im Zentralnervensystem ist zu sagen, daß die bei der Durchführung der PAS-Reaktion notwendige Behandlung des Gewebes mit einem so starken Oxydationsmittel wie Perjodsäure einen Eingriff in das Strukturgefüge darstellt, der die ohnehin schwierige feinere Differenzierung und Zuordnung der mit diesen Methoden nachgewiesenen Substanzen zu bestimmten Strukturelementen nur beschränkt möglich macht. Trotzdem glaubt HESS (1958), eine Lokalisation der histochemisch nachgewiesenen Substanzen in Nervenzellen und Gliazellfortsätzen ausschließen zu können. Er neigt vielmehr unter dem Eindruck elektronenoptischer Befunde am Rückenmarksgrau (WYCKOFF u. YOUNG 1956) dazu, sich die Mucopolysaccharide auf Räume zwischen den Zellen und ihren Ausläufern beschränkt zu denken. Die Unsicherheit der Lokalisation histochemisch nachgewiesener Substanzen in feinstrukturellen Bereichen wird durch die abweichende Meinung von NIESSING u. VOGELL beleuchtet, die in der Hirnrinde des Menschen und des Affen elektronenoptisch eine nahezu lückenlose Ausfüllung mit Zellfortsätzen fanden und geneigt sind, die von HESS nachgewiesenen Mucopolysaccharide den Gliazellen und ihren Fortsätzen zuzuordnen. Es läßt sich also, wenn man von den Befunden ROBERTSONS absieht, über die Natur der in den Intercellularfugen vorkommenden Stoffe noch wenig aussagen.

Besser belegen lassen dürfte sich dagegen die Annahme, daß dem System der Intercellularfugen, das in den „grauen“ Gebieten des Zentralnervensystems in besonderer Differenzierung vorliegt, eine Rolle im Dienste des Stoffaustausches und Stofftransportes zukommt. Der Durchtritt von Stoffen durch die Zellgrenzbereiche ist nicht nur von den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Membranen und von Diffusionsvorgängen bestimmt, die vorwiegend von der Zusammensetzung der umgebenden Medien abhängig sind, sondern es liegen ihm auch aktive Leistungen der Zellen zugrunde (passive bzw. physikalische und aktive, bzw. physiologische Permeabilität). Vielfach werden im Cytoplasma Substanzen entgegen ihren chemischen oder elektrochemischen Konzentrationsgradienten angereichert. Es ist anzunehmen, daß Funktionszustände mit Permeabilitätsänderungen an den Grenzschichten einhergehen. Manche Befunde sprechen auch dafür, daß selbst der Durchtritt des Wassers durch die Zellgrenzschichten nicht nur auf Grund passiver, physikalischer, sondern auch mit Hilfe aktiver komplizierter Lebensvorgänge erfolgt (ROSENBERG 1948). Schon bezüglich der passiven Permeabilität z. B. für Ionen unterscheiden sich die Grenzbereiche verschiedener Zelltypen erheblich. Dies ergibt sich aus permeabilitätsphysiologischen Befunden über die Kinetik des Stoffaustausches und die Mechanik der Stoffaufnahme und scheint nicht zuletzt auch von einer unterschiedlichen chemischen Organisation der im wesentlichen lipoiden Charakter tragenden Membranen abhängig zu sein (DAVSON u. DANIELLI 1943). Das durch Befunde und Theorien am besten fundierte Beispiel des aktiven Transportes durch Zellgrenzflächen ist das der Glucose, des für die Nervenzellen bedeutungsvollsten Substrates der energieliefernden Prozesse, wobei die Aufnahme der Glucose mittels der Hexokinase-reaktion sich in mehreren Schritten abspielt, welche sich auf die Außen- und Innenseite der Membran verteilen. Die sichergestellten Unterschiede des aktiven und passiven Durchtritts von Stoffen durch die Grenzbereiche verschiedener Zelltypen machen es unwahrscheinlich, daß Wasser, anorganische und organische Elektrolyte und Nichtelektrolyte auf ihrem Weg von der Capillare etwa bis in das Perikaryon von Nervenzellen zuvor noch andere interstitielle Elemente, beispielsweise glöse Zellen, passieren, von denen anzunehmen ist, daß für ihre Grenzbereiche differente Permeabilitätsverhältnisse gegeben sind. Hierbei würde ein mehrmaliger aktiver Transport durch verschiedene Plasmagrenzschichten unökonomisch große Energiemengen in Anspruch nehmen. Es liegt näher, daß das kommunizierende Raumpaltensystem, das sich elektronenoptisch im Rindengrau des Groß- und Kleinhirns nachweisen läßt, den wesentlichen Weg für den kontinuierlichen Flüssigkeits- und Stofftransport zwischen dem Blutweg und den parenchymatösen bzw. interstitiellen Zellelementen darstellt. Es dürfte auch der Raum sein, in

welchem die an erregbaren Membranen auftretenden extracellulären Elektrolytverteilungen erfolgen. Dies ist auch der Deutung von NIESSING u. VOGELL (1957) entgegenzuhalten, die das intracelluläre Fugensystem nicht darzustellen vermochten, sondern nur linienhafte unmittelbare Grenzflächen sahen und an „Stoffwechselvorgänge unmittelbar von Zelle zu Zelle im Bereich kleinster Dimensionen“ denken. Der hier umrissenen Funktion des intercellulären Raumes stünde die von ROBERTSON u. PORTER postulierte Ausfüllung der Fugen durch ein hochhydriertes Gel, möglicherweise von Mucopolysaccharidcharakter, nicht entgegen. Hingegen ließe sich damit nicht die Auffassung SJÖSTRANDS vereinigen, daß orientierte Bestandteile der Zellmembranen von Lipoidnatur den intercellulären Raum ausfüllen. Die Konstanz der Breite der Intercellularfugen im Zentralnervensystem bleibt ein eindrucksvoller Befund, der sich derzeit noch unserer Deutung entzieht.

Ödematöse Gewebsdurchtränkungen führen in der grauen Substanz nicht selten zu im Lichtmikroskop erkennbaren Veränderungen, die als Auflockerung des „Grundgewebes“ beschrieben werden. Transsudate dürften sich schnell innerhalb der Intercellularfugen verteilen und ausbreiten und so zu einer „Durchtränkung“ des Gewebes führen, ohne daß eine tiefergreifende Schädigung des Gewebsverbandes, etwa durch Kontinuitätstrennung, eintreten braucht. Das könnte beispielsweise zum Verständnis der auffallenden relativen Resistenz der Nervenzellen in ödematösen Durchtränkungsbereichen beitragen, auf die SCHOLZ (1949) hingewiesen hat. Auch die vom gleichen Autor behandelte Frage der (dyshorischen) plasmatischen Infiltrationsnekrose im Zentralnervensystem erfährt durch den Nachweis eines intercellulären Fugensystems eine neue Beleuchtung.

Es verbleibt zu erörtern, welche Bestandteile des Grundcytoplasmas und welche cytoplasmatischen Organellen sich in den einzelnen durch ein kommunizierendes Fugensystem getrennten Profilanschnitten des sogenannten „nervösen Graues“ finden.

An Stelle des älteren Begriffes „Hyaloplasma“ wird heute vielfach der Ausdruck Grundcytoplasma gebraucht. Darunter wird das nach Eliminierung aller licht- und elektronenmikroskopisch nachweisbaren Organellen und Einschlüsse verbleibende Cytoplasma verstanden. Die modernen Auffassungen über seine makromolekulare Struktur hat FREY-WYSSLING (1955) zusammengefaßt.

In den Zellfortsätzen manifestieren sich Bestandteile des Grundcytoplasmas als flockig verteiltes, schwach osmophiles Material, das an Longitudinalschnitten vielfach eine feinfädige Gestalt und Neigung zu Orientierung zur Längsachse zeigt. Gleiche etwa 100 Å dicke Gebilde wurden als Protofibrillen oder Neurofilamente im Axoplasma markhaltiger und markloser Nervenfasern beschrieben (SCHMITT 1950; SCHMITT u. GEREN 1950; BAUD 1950). Dagegen haben sich die klassischen

sogenannten Neurofibrillen im Achsenzylinder weder als Organellen noch als Differenzierungsprodukte des Axoplasmas nachweisen lassen.

Dies stimmt mit Vorstellungen über die Ultrastruktur des Axoplasmas überein, die sich u. a. auf polarisationsmikroskopische Befunde (SCHMIDT 1924; BEAR, SCHMITT u. YOUNG 1937) und auf Manipulationen an Riesennervenfaseren von Cephalopoden (HODGKIN u. KATZ 1949; CHAMBERS 1947) stützen. Es ergab sich, daß das lebende Axoplasma als wasserreiches, äußerst labiles Gel zu betrachten ist, in dem anisodiametrische Makromolekeln parallel zur Faserlängsachse angeordnet sein dürften.

In den als Anschnittsprofile von Zellfortsätzen zu identifizierenden membranumschlossenen Feldern zeigen die Mitochondrien den gleichen Bau wie in den Perikarya der Nerven- und Gliazellen. Ihre strukturellen Merkmale wurden von SjöSTRAND und PALADE eingehend beschrieben. Aus der Gegenwart dieser Organellen ergibt sich die Anwesenheit von Enzymgarnituren der energieliefernden Prozesse bis in die feinsten protoplasmatischen Fortsatzverästelungen. Die durch Membranen abgegrenzten ovalen und tubulären Gebilde, die wir im Grundcytoplasma größerer Zellfortsätze nachweisen konnten, sind dem Endoplasmareticulum zuzurechnen. Der Begriff wurde 1945 von PORTER, CLAUDE u. FULLAM zur Kennzeichnung eines membranbegrenzten, netzförmig verzweigten Zisternensystems gewählt, das im Cytoplasma vieler Zellen in mannigfacher Form und Ausprägung beobachtet werden konnte (PALADE u. PORTER 1954; PALADE 1955). In größeren Zellfortsatzschnittprofilen finden sich gelegentlich auch spärlich die von PALADE beschriebenen osmophilen Granula, deren Beziehung zur Basophilie und zum Nucleotidgehalt des Cytoplasmas näher umrissen wurde. Bei den in Haufen oder traubenförmig angeordneten kleinen bläschenförmigen Gebilden, die besonders reichlich in der Molekularschicht der Kleinhirnrinde und in der 1. Schicht der Großhirnrinde nachweisbar sind, handelt es sich um intraplasmatische, erstmals elektronenoptisch beobachtete Organellen, welche in Präsynapsen von Invertebraten und Vertebraten von einer Reihe von Untersuchern (PALADE u. PALAY 1954; DE ROBERTIS u. BENNET 1954/55) als „Synapsenbläschen“ beschrieben worden sind. Eine Beziehung dieser Gebilde zur Bildung von Acetylcholin im präsynaptischen Axoplasma wird angenommen (ROBERTSON 1956). Von Interesse sind in diesem Zusammenhang die mit mikrochemischen Methoden erhobenen Befunde von POPE (1952), POPE, CAVANESS u. LIVINGSTON (1952) über die Verteilung der Acetylcholinesterase in der Großhirnrinde. Zu dem Ergebnis, daß die Aktivität des Enzyms vor allem in den Fortsätzen der Nervenzellen lokalisiert sein dürfte, waren schon HARD u. PETERSON (1950), KOELLE (1950), SINDEN u. SCHARRER (1949) gelangt; POPE u. Mitarb. fanden eine besonders hohe Aktivität in der 1. Schicht der Großhirnrinde. Diese ist, wie uns das Elektronenmikroskop zeigt, nahezu ausschließlich aus einem dichten Filz feiner und feinsten

Zellfortsätze zusammengesetzt, in denen sich besonders zahlreiche Häufungen von Synapsenbläschen nachweisen lassen. Die Ansicht NISSLS, daß das Rindendach (*Lamina zonalis molecularis*) in funktioneller Hinsicht von untergeordneter Bedeutung sei, besteht demnach nicht zu Recht. Der elektronenoptische Nachweis differenzierter Strukturen, insbesondere zahlreicher Synapsen, und die histochemischen Acetylcholinesterasebefunde kennzeichnen dieses nervenzellarme Gewebe als Gebiet von nicht geringer funktioneller Wertigkeit.

Bei axodendritischen Synapsen, wie sie in der Molekularis der Großhirnrinde fast ausschließlich vorkommen, bezeichnet man die Membranen der axonalen Endformationen als präsynaptische, die der Dendriten als postsynaptische.

In den Bereichen, die auf Grund der Existenz von Synapsenbläschen als präsynaptische axonale Endorgane aufgefaßt werden können, finden wir nicht selten umschriebene, dunkel kontrastierbare Anlagerungen an der präsynaptischen und der zu ihr parallel verlaufenden postsynaptischen Membran. Dieser noch nicht sicher deutbare Befund entspricht den von PALAY (1956) an Synapsen des Zentralnervensystems von Säugern getroffenen Feststellungen. Prä- und postsynaptische Membranen treten jedoch nicht in direkten Kontakt, sondern sind, wie alle benachbarten Zellmembranen, getrennt. Die Breite dieser synaptischen Fugen bewegt sich nach unseren Beobachtungen innerhalb des von uns allgemein bei Interzellularfugen im Zentralnervensystem feststellbaren Durchschnittswertes. Dies gilt auch für die Knäuelsynapsen der Kleinhirnrinde (HAGER u. HIRSCHBERGER 1958). Fugenabstände etwa gleicher Größe wurden an verschiedenen Synapsenformationen von ESTABLE, REISSIG u. DE ROBERTIS (1954), WYCKOFF u. YOUNG (1956), PALAY (1956) gefunden.

Ob einzelne Bestandteile des filzartig dichten, aus Zellfortsätzen gebildeten Gefüges zu Nerven- oder Gliazellen gehören, ob es sich um Dendritenverzweigungen oder Axonverästelungen handelt, ist am ultradünnen Schnitt elektronenoptisch meist nicht zu entscheiden. Strukturen, die dem Endoplasmareticulum zuzurechnen sind, lassen sich in nahezu allen Zellen nachweisen (PORTER, CLAUDE u. FULLAM 1945; PALADE u. PORTER 1954; PALADE 1955). Sie besitzen demnach wenig kennzeichnenden Wert für eine Differenzierung der Herkunft. Dendriten enthalten in der Nähe ihrer Ursprungskegel gewöhnlich Zisternen des Endoplasmareticulums und Paladegranula in ähnlicher Anordnung, wie sie sich in den Perikarya von Nervenzellen finden. Wie schon erörtert, lassen sich „Protofibrillen“, d. h. zum Faserverlauf longitudinal verlaufende fädige Ausfällungen aus dem Grundcytoplasma, wohl nicht nur in Axonen, sondern auch in Dendriten und ihren Aufzweigungen nachweisen. Daß die sogenannten Neurofibrillen, die sich lichtmikroskopisch

bei der Anwendung bestimmter Techniken regelmäßig darstellen lassen, weder elektronenoptisch noch mit anderen Methoden der Feinstrukturforschung nachweisbar sind, wurde schon hervorgehoben. Nichtmyelinisierte Axonabschnitte entbehren demnach bei der bisher angewandten elektronenoptischen Technik einer sicheren Merkmalskennzeichnung. Wenn wir von der mutmaßlichen Bedeutung der Synapsenbläschen absehen, fehlt uns bis jetzt jedes sichere Kriterium, um das Gewirr der feinen und feinsten Zellfortsatzverästelungen, die eine gewisse Monotonie der Bauverhältnisse zeigen, zu differenzieren. Die schwierige Sachlage läßt sich an der Lamina molecularis der Kleinhirnrinde zeigen (HAGER u. HIRSCHBERGER 1958). Hier ist mit einer Raumauffüllung durch eine Reihe von Zellfortsatzsystemen zu rechnen: Dendritenbüschel der Purkinje-Zellen, tangential gerichtete Axonstämme der Korbzellen, Kletterfasern, Longitudinalfortsätze der Sternzellen, Fortsätze der epitheloiden Gliazellschicht, der sogenannten Fanäsenzellen, der Oligodendro- und Mikroglia. Es ist demnach schwer abzuwägen, in welchem Maße einerseits das nervöse Parenchym und andererseits das gliöse Interstitium an der Bildung des dichten Zellfortsatzfilzes sich beteiligt. Sicher aber dürften die Nervenzelldendriten mit ihren feinsten Verzweigungen daran mit den wesentlichsten Anteilen haben. GOLGI brachte seinerzeit mit seinen Inkrustationsmethoden gewaltige Dendritenbäume zur Darstellung, die bei verschiedenen Nervenzelltypen in ihrer Größe und Form stark variieren. Man kam später vielfach zu der Annahme, daß diese mit den launischen Silbermethoden gewonnenen Bilder nicht völlig den wirklichen Verhältnissen entsprechen. Unsere Befunde führen zu der Annahme, daß sich sowohl Dendriten als auch kollaterale und terminale Axonverzweigungen im Submikroskopischen so fein verästeln, daß gelungene Golgi-Imprägnationen sicher der Wirklichkeit entsprechen, obgleich sie ja nur bestenfalls einen Großteil der lichtmikroskopischen exzessiven Verzweigungen darstellen können. Verschiedentlich wird für den Faserfilz, der zwischen den Perikarya der Zellen in grauen Gebieten des Zentralnervensystems histologisch nachweisbar ist, im Anschluß an HERRICK der Ausdruck Neuropil gebraucht. Diese Bezeichnung, die von HIS stammt, war ursprünglich der geflechtartigen Organisationsform vorbehalten, die APATHY am Nervensystem von Invertebraten beschrieben hat.

Es verbleibt die Erörterung der älteren Befunde und Vorstellungen über Grundsubstanz, „nervöses Grau“ und allgemeines Grundnetz in bezug auf unsere elektronenoptischen Ergebnisse. Die Beweisführung NISSLS für ein neben dem Parenchym im Zentralnervensystem der Wirbeltiere existierendes nervöses Grau war im wesentlichen eine indirekte. NISSL schätzte den Raum, den die Nervenzellen beanspruchen, nach den Bildern seiner selektiven Färbung ab, zog dazu noch Befunde bei der

sogenannten „akuten Nervenzellerkrankung“ hinzu, wo viel längere Strecken der Axone und der Dendriten färberisch dargestellt werden als im normalen Zellbild sichtbar sind. Für die richtige räumliche Abschätzung des Anteils der Axone fehlte noch ein brauchbarer Maßstab. Um die Jahrhundertwende standen lediglich Methoden zur Färbung markhaltiger Fasern zur Verfügung. Auch die Verfahren zur Darstellung der Gliazellen und ihrer protoplasmatischen Fortsätze waren damals noch unvollkommen. Die modernen Silberimprägnationsverfahren gaben in der Folgezeit weit aufschlußreichere Bilder von den Strukturverhältnissen in den grauen Gebieten und ihren räumlichen Zuordnungen. Schon BIELSCHOWSKY hat unter dem Eindruck der verfeinerten lichtmikroskopischen Methoden geäußert, daß die räumliche Entfaltung der Dendriten und marklosen Nervenfasern der grauen Gebiete besonders in der Großhirnrinde eine so beträchtliche sei, daß ein Zwang, eine besonders von den Zellen emanzipierte nervöse Substanz oder eine Grundsubstanz annehmen zu müssen, nicht besteht. NISSL verwendete mit als Hauptargument die Beobachtung, daß bei niederen Säugetieren im Cortex die Nervenzellen eine relativ dichtere Lagerung zeigen als bei Primaten und daß der Raum, den er dem nervösen Grau zusprechen wollte, um so größer sei, je höher die betreffende Tierart in der phylogenetischen Reihe stünde. Dagegen ist eingewendet worden (BIELSCHOWSKY), daß bei höher stehenden Arten das Volumen des Zelleibes im Verhältnis zum Volumen des Kernes zunimmt. Vor allem aber wird die Gliederung der Fortsätze viel ausgeprägter, die Dendriten werden zahlreicher und länger. Das Abnehmen der Zellzahl pro Raumeinheit wird bei höher stehenden Arten also durch die starke Differenzierung der Ausläufer des Zellkörpers und die damit verbundene gewaltige Zunahme der gesamten Zelloberfläche mehr als ausgeglichen. Ob wirklich eine gesetzmäßige Beziehung zwischen phylogenetischer Differenzierungshöhe und corticaler Nervenzelldichte besteht, dürfte fraglich sein. Gesicherter scheint die Annahme, daß bei Säugetieren im allgemeinen höheres Hirngewicht mit niederer Dichte der Nervenzellperikarya in der Hirnrinde einhergeht. Jedoch wurden bestätigende quantitative Daten über diese Beziehungen erst in neuerer Zeit von TOWER (1954) beigebracht. Während NISSL über die Struktur seines hypothetischen nervösen Graus keine Aussage machen konnte, hat HELD seine Vorstellungen näher präzisiert. Sein allgemeines Grundnetz, wie es zeichnerisch auf Grund von Befunden dargestellt wurde, die in der Lamina molecularis der Kleinhirnrinde mit besonderer histologischer Technik erhoben worden waren, stellt ein noch relativ grobmaschiges mehrdimensionales Netzwerk dar, dessen einzelne Bälkchen im Durchschnitt Abstände von einigen μ einhalten. Beziehungen des Grundnetzes zu cellulären Terminalverästelungen konnten von HELD histologisch nicht überzeugend evident gemacht werden. Bei einer retikulären

syncytialen Organisationsform müßten sich anastomosierende Verbindungen gerade an den Endstrecken der in nicht übersehbarer Weise verästelten Zellausläufer finden lassen. Jedoch lassen sich elektronenoptisch an den feinsten, in jeder Schnittrichtung getroffenen Zellfortsätzen eindeutige Anastomosierungen nie, Verzweigungen recht selten nachweisen. Die elektronenoptischen Befunde sprechen also gegen die Realität des von HELD als syncytiales, aus Dendriten, Axonkollateralen und Gliafortsätzen hervorgegangen gedachten Grundnetzes und damit auch gegen eine zwischenzellige Organisation im Sinne K. F. BAUERS. Für jüngst entwickelte Vorstellungen SCHUCHARDTS (1957), der die von P. WEISS nachgewiesene Substanzwanderung im Axoplasma dahingehend deutete, daß in der grauen Substanz ein von den Nervenzellen stammendes „protofibrilläres Plasmasol“ aus den Ausläufern der Telodendren in ein Syncytium der protoplasmatischen Glia übertreten und dort informationsleitende Netze bilden soll, geben die feinstrukturellen Befunde ebenfalls keine Anhaltspunkte.

Wir können bei der Analyse der grauen Gebiete des Zentralnervensystems im Elektronenmikroskop lediglich protoplasmatische Zellfortsätze, zum Teil in feinsten Endaufzweigung, feststellen, die sich als dichter Filz ineinanderfügen und durch Interzellularfugen von weitgehend konstanter Breite getrennt sind. Alle Einwände, die von den Retikularisten und Verfechtern syncytialer Bautheorien des Nervensystems, ausgehend von der Konzeption einer Grundsubstanz, eines besonderen, eigenständigen nervösen Graus oder eines allgemeinen Grundnetzes gegen die klassische Neuronentheorie erhoben wurden, können demnach in den elektronenoptischen Befunden keine Stütze finden; sie werden durch sie im Gegenteil widerlegt.

Zusammenfassung

Die elektronenoptische Untersuchung von Dünnschnitten der Groß- und Kleinhirnrinde des Goldhamsters ergab eine Ausfüllung der Gewebgebiete, die für eine Grund- oder Zwischensubstanz bzw. für ein nervöses Grau in Anspruch genommen wurden, mit einem dichten Gefüge von Zellfortsätzen, größtenteils in Form feiner und feinsten, lichtmikroskopisch nicht erkennbarer Endaufzweigungen. In den Zellfortsätzen, die durchweg begrenzende Membranen aufweisen, finden sich Bestandteile des Grundcytoplasmas und häufig auch Mitochondrien. Zwischen den Membranen benachbarter Strukturen sind stets Lücken bzw. Fugen von 150–200 Å Breite nachzuweisen. Ein echter extracellulärer Raum ist in der grauen Substanz nur in Form dieses kontinuierlichen Interzellularfugensystems zu beobachten, das — wie besonders begründet wird — den wesentlichen Weg für den Flüssigkeits- und Stofftransport zwischen dem Blutweg und den parenchymatösen bzw. interstitiellen Zellelementen,

sowie den Raum für die an erregbaren Membranen bestehenden extracellulären Elektrolytverteilungen darstellen dürfte. Die Natur der elektronenoptisch in den Fugen nachweisbaren Substanzen wird im Hinblick auf histochemische Befunde über Mucopolysaccharidvorkommen im Zentralnervensystem erörtert. Besonders häufig sind in der Molecularis der Groß- und Kleinhirnrinde in Profilanschnitten von Zellfortsätzen traubenförmige Ansammlungen sogenannter „Synapsenbläschen“ und umgrenzte Substanzanlagerungen an den Membranen festzustellen. Diese Befunde werden in bezug auf histochemische Ergebnisse über die Acetylcholinesteraseverteilung im Zentralnervensystem diskutiert. Hervorzuheben ist, daß die elektronenoptischen Befunde in Widerspruch stehen zu den Vorstellungen NISSLS über einen nichtzelligen spezifisch nervösen Anteil des Zentralnervensystems („nervöses Grau“) und zur Lehre HELDS von einer retikulären syncytialen Organisationsform des Zentralnervensystems („allgemeines Grundnetz“), womit wesentliche Einwände der Retikularisten und Anhänger syncytialer Bautheorien gegen die klassische Neuronentheorie entfallen.

Literatur

- APATHY, ST. V.: Nach welcher Richtung hin soll die Nervenlehre reformiert werden? Histologisches und Histogenetisches. *Biol. Zbl.* **9**, 527, 600, 627 (1889). — BAIRATI, A.: Spreading factor and mucopolysaccharides in the central nervous system of vertebrates. *Experientia* (Basel) **9**, 461 (1953). — BAUD, CH. A.: Ultrastructure de la fibre nerveuse en rapport avec sa fonction. *Bull. schweiz. Akad. med. Wiss.* **8**, 426 (1952). — BAUER, K. F.: Organisation des Nervengewebes und Neurencytiumtheorie. München, Berlin: Urban & Schwarzenberg 1953. — BEAR, R. S., F. O. SCHMITT and J. Z. YOUNG: The ultrastructure of nerve axoplasm. *Proc. roy. Soc. B* **123**, 505 (1937). — Investigations on the protein constituents of nerve axoplasm. *Proc. roy. Soc. B* **123**, 520 (1937). — BIELSCHOWSKY, M.: Allgemeine Histologie und Histopathologie des Nervensystems. *Handb. der Neurologie* von O. BUMKE u. O. FOERSTER, 1. Bd. Berlin: Springer 1935. — BOLL, F.: Die Histologie und Histiogenese der nervösen Zentralorgane. *Arch. f. Psychiatr.* **4**, 1 (1874). — BRANTE, G.: On the role of some polysaccharidic substances in the development of nervous tissue. In WAELSCH, H.: *Biochemistry of the developing nervous system*. New York: Academic Press, Inc. 1955. — CHAMBERS, R.: The shape of oil drops injected into the axoplasm of the giant nerve of the squid. *Biol. Bull.* **93**, 191 (1947). — DAVSON, H., and J. F. DANIELLI: The permeability of natural membranes. Cambridge University Press 1932. — DIEZEL, P. B.: Histochemische Untersuchungen an den Corpora amylacea des Zentralnervensystems. Zugleich ein Beitrag zur formalen Genese. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* **39**, Tagg. 199, 1955. — DIXON, K. C.: Glycolysis and cytochemistry of cerebral cortex. *J. Physiol. (Lond.)* **120**, 266 (1953). — Cytochemistry of cerebral grey matter. *Quart. J. exp. Physiol.* **39**, 129 (1954). — EHRENBURG, F.: Beobachtung einer bisher unbekannten Struktur des Seelenorgans des Menschen. Berlin: 1836 (zit. nach BOLL 1874). — ESTABLE, C., M. REISSIG and E. DE ROBERTIS: Microscopic and submicroscopic structure of the synapsis in the ventral ganglion of the acoustic nerve. *Exp. Cell Res.* **6**, 255 (1954). — FREY-WYSSLING, A.: Die submikroskopische Morphologie des Cytoplasmas. *Handb. d. allg. Pathol.* Bd. 2, T. 1, S. 69. Berlin, Göttingen,

Heidelberg: Springer 1955. — GERLACH, H.: Über die Struktur der grauen Substanz des Großhirns. Med. Zbl. 1872 (zit. nach BIELSCHOWSKY 1935). — GIERKE, H.: Die Stützsubstanz des Centralnervensystems. Arch. mikr. Anat. **25**, 441 (1885); **26**, 129 (1886). — GLEGG, R. E., and R. H. PEARCE: Chemical extraction of metachromatic and periodic acid Schiff positive carbohydrates from cerebral tissue. J. comp. Neurol. **106**, 291 (1958). — GOLGI, C.: Sulla fina anatomia degli organi centrali del sistema nervoso. Milano: Hoepli 1886. — HAGER, H., u. W. HIRSCHBERGER: Die Feinstruktur der Kleinhirnrinde des Goldhamsters. Verh. Ber. 4. Internat. Kongr. f. Elektronenmikroskopie, Berlin, 10. 9. 58 (im Druck). — HAGER, H., W. HIRSCHBERGER u. W. SCHOLZ: Elektronenoptische Befunde zur normalen Ultrastruktur des zentralnervösen Gewebes und zu ihrer Veränderung unter experimentell-pathologischen Bedingungen. Zbl. Neur. **147**, 1 (1958); Nervenarzt (im Druck). — HARD, W. L., and A. C. PETERSON: The distribution of choline esterase in nerve tissue of the dog. Anat. Rec. **108**, 57 (1950). — HELD, H.: Das Grundnetz der grauen Hirnsubstanz. Mschr. Psychiat. Neurol. **65**, 68 (1927). — HERRICK, J.: The brain of the tiger salamander. Chicago: University of Chicago Press 1948. — HESS, A.: The ground substance of the central nervous system revealed by histochemical staining. J. comp. Neurol. **98**, 69 (1953). — Relation of the ground substance of the central nervous system to the blood-brain barrier. Nature (Lond.) **175**, 387 (1955). — Blood-brain barrier and ground substance of the central nervous system. Arch. Neurol. Psychiat. (Chicago) **73**, 380 (1955). — Further histochemical studies on the presence and nature of the ground substance of the central nervous system. J. Anat. (Lond.) **92**, 298 (1958). — HIS, W.: Über den Aufbau unseres Nervensystems. Berl. klin. Wschr. 1893, I, 40, 41 (zit. nach CAJAL: Die Neuronenlehre, Handb. Neur. BUMKE-FOERSTER, Bd. 1). — HODGKIN, A. L., and R. KATZ: The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. J. Physiol. (Lond.) **108**, 37 (1949). — HOLMGREN, H.: Über Vorkommen und Bedeutung der chromotopen (metachromatischen) Substanz im menschlichen Feten. Anat. Anz. **88**, 246 (1939). — HORSTMANN, E.: Die Struktur der molekularen Schichten im Gehirn der Wirbeltiere. Naturwissenschaften **1957**, 448. — KOELLE, G. B.: Histochemical differentiation of types of cholinesterases and their localizations in tissues of the cat. J. Pharmacol. exp. Ther. **100**, 158 (1950). — KRAMER, H., and G. M. WINDRUM: Sulfation techniques in histochemistry with special reference to metachromasia. J. Histochem. Cytochem. **2**, 196 (1954). — LEBLOND, C. P.: Distribution of periodic acid-reactive carbohydrates in the adult rat. Amer. J. Anat. **86**, 1 (1950). — LUFT, J. H.: Permanganate — a new fixative for electron microscopy. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 799 (1953). — NIESSING, K., u. W. VOGEL: Das elektronenoptische Bild der sogenannten Grundsubstanz der Hirnrinde. Z. Naturforsch. **12b**, 641 (1957). — NISSEL, F.: Die Neuronenlehre vom pathologisch-anatomischen und klinischen Standpunkt. Verh. Dtsch. Naturforsch. und Ärzte 1900. Allg. Teil. Leipzig: F. C. W. Vogel 1901. — Die Neuronenlehre und ihre Anhänger. Jena: Gustav Fischer 1903. — PALADE, G. E.: A study of fixation for electron microscopy. J. exp. Med. **95**, 285 (1952). — An electron microscope study of the mitochondrial structure. J. Histochem. Cytochem. **1**, 188 (1953). — A small particulate component of the cytoplasm. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 59 (1955). — Studies on the endoplasmic reticulum. II. Simple dispositions in cells in situ. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 567 (1955). — PALADE, G. E., and S. L. PALAY: Electron microscope observations of interneuronal and neuromuscular synapses. Anat. Rec. **118**, 335 (1954). — PALADE, G. E., and K. R. PORTER: Studies on the endoplasmic reticulum. I. Its identification in cells in situ. J. exp. Med. **100**, 641 (1954). — PALAY, S. L.: Synapses in the central nervous system. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 193 (1956). — POPE, A.: Quantitative distribution of

dipeptidase and acetylcholinesterase in architectonic layers of rat cerebral cortex. *J. Neurophysiol.* **15**, 115 (1952). — POPE, A., W. CAVENESS and K. E. LIVINGSTON: Architectonic distribution of acetylcholinesterase in the frontal isocortex of psychotic and nonpsychotic patients. *Arch. Neurol. Psychiat.* (Chicago) **68**, 425 (1952). — PORTER, K. R.: Observations on the fine structure of animal epidermis. *Proc. 3rd. Internat. Conf. on Electron Microscopy*. S. 539, Roy. Soc. Lond. 1956. — PORTER, K. R., H. CLAUDE and E. F. FULLAM: A study of tissue culture by electron microscopy. Methods and preliminary observations. *J. exp. Med.* **81**, 233 (1945). — ROBERTIS, E. DE, and H. S. BENNET: Submicroscopic vesicular component in the synapses. *Fed. Proc.* **13**, 35 (1954). — ROBERTSON, J. D.: Recent electron microscope observations on the ultrastructure of the crayfish median-to moter giant synapse. *Exp. Cell Res.* **8**, 226 (1955). — The ultrastructure of a reptilian myoneural junction. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 381 (1956). — New observations on the ultrastructure of the membranes of frog peripheral nerve fiber. *J. biophys. biochem. Cytol.* **3**, 1043 (1957). — The cell membrane concept. *J. Physiol.* **140**, 58 (1957). — Structural alterations in nerve fibers produced by hypotonic and hypertonic solutions. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 349 (1958). — ROSENBERG, T. H.: *Acta Chem. Scand.* **2**, 14 (1948) (zit. nach HAAS, J.: *Physiologie der Zelle*, S. 359. Berlin: Borntraeger 1955). — SCHMIDT, W. J.: Die Bausteine des Tierkörpers in polarisiertem Lichte. Bonn: Fr. Cohen 1924. — SCHMITT, F. O.: The structures of the axon filaments of the giant nerve fiber of *Loligo* and *Myxicola*. *J. exp. Zool.* **113**, 499 (1950). — SCHMITT, F. O., and B. B. GEREN: The fibrous structure of the nerve axon in relation to the localization of „neurotubules“. *J. exp. Med.* **91**, 499 (1950). — SCHOLZ, W.: Histologische und topische Veränderungen und Vulnerabilitätsverhältnisse im menschlichen Gehirn bei Sauerstoffmangel, Ödem und plasmatischen Infiltrationen. *Arch. Psychiat. Nervenkr.* **181**, 621 (1949). — SCHUCHARDT, E.: Zur funktionellen Organisation des Nervengewebes (Eine Arbeitshypothese). *Z. mikr. anat. Forsch.* **64**, 258 (1958). — SINDEN, J. A., and E. SCHARER: Distribution of certain enzymes in the brain of the pigeon. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **72**, 60 (1949). — SJÖSTRAND, F. S.: The ultrastructure of the retinal rod synapses of the guinea pig eye. *J. appl. Physiol.* **24**, 1422 (1953). — The ultrastructure of cells as revealed by the electron microscope. *Int. Rev. Cytol.* **5**, 456 (1956). — TOWER, D. B.: Structural and functional organization of mammalian cerebral cortex: The correlation of neuron density with brain size. *J. comp. Neurol.* **101**, 19 (1954). — VOGEL, A.: Zelloberfläche und Zellverbindungen im elektronenmikroskopischen Bild. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **41**, 285 (1958). — WEISS, P.: Damming of axoplasm in constricted nerve: A sign of perpetual growth in nerve fibers. *Anat. Rec.* **88**, 464 (1944). — WYCKOFF, R. W. G., and J. Z. YOUNG: The motoneuron surface. *Proc. roy. Soc. B* **144**, 440 (1956). — ZETTERQUIST, H.: The ultrastructural organization of the columnar absorbing cells of the mouse jejunum. An electronmicroscopic study including some experiments regarding the problem of fixation and an investigation of vitamin A deficiency. Stockholm: Thesis 1956.

Dr. H. HAGER, München 23, Kraepelinstr. 2

V e r ö f f e n t l i c h u n g e n

- HAGER, H.: Die Cytoarchitektonik des Bulbus olfactorius des Igels, *Erinaceus europaeus* Linné, 1758.
Säugetierkundliche Mitteilungen 2, 8, 1953
- HAGER, H. und W. HIRSCHBERGER:
Die Feinstruktur der Kleinhirnrinde des Goldhamsters.
Verh. Internat. Kongr. f. Elektronenmikroskopie. Springer,
Berlin 1959 (Im Druck)
- HAGER, H., W. HIRSCHBERGER und W. SCHOLZ: Elektronenoptische Befunde
zur normalen Ultrastruktur des zentralnervösen Gewebes und
zu ihrer Veränderung unter experimentell-pathologischen
Bedingungen.
Nervenarzt 30, 298 (1959).
- HAGER, H. und H. PEHLAND: Eine Weiterentwicklung der interferenzmikro-
skopischen Methode und ihrer Anwendbarkeit auf quantita-
tive Probleme in der Cytologie.
Verhdlg. Deutscher Neuropathologen Wien 1958.
Zentralbl. Neur. 147, 14 (1958)
- HAGER, H. und H. PEHLAND: Interferenzmikroskopische Massenbestimmun-
gen an biologischen Objekten mit einer Zweiwellenlängen-
methode.
Naturwissenschaften 1958, 370.
- HAGER, H. und W. L. TAFURI: Elektronenmikroskopischer Nachweis sogen.
neurosekretorischer Elementargranula in marklosen Nerven-
fasern des Plexus myentericus (AUERBACH) des Meerschwein-
chens.
Naturwissenschaften 1959, 332.
- HAGER, H. und W. L. TAFURI: Elektronenoptische Untersuchungen über die
Feinstruktur des Plexus myentericus (AUERBACH) im Colon
des Meerschweinchens (*Cavia cobaya*).
Arch. Psychiatr. 1959 (Im Druck).

- v. HIRSCH, Th. und H. HAGER: Phasenkontrastmikroskopische Schnelldiagnose mit Hilfe eines neuen Einschlußmittels und ihre Anwendung bei Hirngeschwülsten.
Zbl. Neurochirurg. 13, 275 (1953)
- v. HIRSCH, Th. und H. HAGER: Über die kombinierte Anwendung von Phasenkontrast- und Polarisationsbild in der Histopathologie des Nervensystems.
Arch. Psychiatr. 193, 146 (1955)
- MERIWETHER, L. S., H. HAGER und W. SCHOLZ: Kernicterus, Hypoxemia the significant pathogenetic Factor.
Arch. of Neurol. and Psych. 73, 296 (1955)
- MERIWETHER, L. S., H. HAGER und W. SCHOLZ: Cerebral Pathology following Serum Anaphylaxis.
Arch. of Neurol. and Psych. 73, 286 (1955)
- PEHLAND, H. und H. HAGER: Zur Theorie interferenzmikroskopischer Massenbestimmungen an biologischen Objekten.
Zeitschr. wissenschaftl. Mikroskopie (im Druck).
- SCHOLZ, W. und H. HAGER: Epilepsie. In Hdb.d.spez.Pathologie, Anatomie und Histologie, Bd. XIII, Teil 4, S.99.
Springer-Verlag Berlin 1956.

Lebenslauf

Am 12. Juni 1923 als Sohn des Justizinspektors Hermann HAGER und dessen Frau Barbara, geb. Hofmann, in München geboren, besuchte ich die Volksschule und das Wilhelmsgymnasium in München und legte an dieser Anstalt im März 1942 die Reifeprüfung ab. Im Juli 1942 wurde ich zum Wehrdienst eingezogen und im August 1945 als Schwerkriegsbeschädigter entlassen. Das Studium der Medizin und der Naturwissenschaften (Fachrichtung Zoologie) begann ich 1946 an der Universität München. Die ärztliche Vorprüfung legte ich dort am 14. 7. 1947, die ärztliche Prüfung am 20. Juni 1951 ab. Die Bestallung als Arzt wurde mir am 20. Juni 1951 erteilt. Am 11. Mai 1950 wurde mir von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München der Doktorgrad verliehen auf Grund einer Abhandlung über "Die Cytoarchitektonik des Bulbus olfactorius von makrosomatischen Kleinsäugetieren. Ein Beitrag zur vergleichenden Morphologie des Riechhirnes", und nach erfolgreicher Ablegung der mündlichen Prüfung am 2. August 1949. Vom 16. Juli 1951 bis 20. Januar 1952 war ich am Pathologischen Institut der Universität München als Gastarzt tätig. Am 31. Januar 1952 wurde ich als Volontärassistent am Hirnpathologischen Institut der Deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie (Max-Planck-Institut) angestellt. Seit 1. April 1953 bin ich als Wissenschaftlicher Assistent, seit 1. April 1959 als Oberassistent am gleichen Institut tätig.

